

ОЦЕНКА ДИЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ К АНЕСТЕЗИРУЮЩЕМУ СРЕДСТВУ АРТИФРИН С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА КВЧ-ДИЭЛЕКТРОМЕТРИИ

Э.Н. Солошенко¹, А.К. Кондакова¹, В.Г. Колесников²,
Н.В. Хмель², З.М. Шевченко¹, Т.П. Ярмак¹

ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины»¹

Институт радиофизики и электроники им. А.Я. Усикова НАН Украины²

Резюме. Проведены измерения диэлектрической проницаемости эритроцитов параллельно с измерением скорости оседания эритроцитов в присутствии анестетика нового поколения артифрина. Высокий коэффициент корреляции ($r = 0,917$) полученных данных по двум методикам свидетельствует об информативности применения КВЧ-диэлектрометрии для оценки сенсibilизации к артифрину и о целесообразности ее использования в качестве экспресс-метода диагностики лекарственной болезни.

Ключевые слова: лекарственная болезнь, эритроциты, КВЧ-диэлектрометрия.

ВВЕДЕНИЕ

Ввиду сложности патогенеза лекарственной болезни и отсутствия на него единого взгляда, механизмы развития этого заболевания продолжают оставаться предметом активного обсуждения на протяжении нескольких десятилетий. Рассматриваются различные гипотезы патогенеза лекарственной болезни, среди которых выделяется концепция ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины», согласно которой, на ос-

новании многолетних клинических наблюдений и экспериментальных исследований это аллергическое заболевание рассматривается не как симптом или синдром, а как вторая болезнь, развивающаяся на фоне любого патологического процесса с вовлечением всех систем организма, при повторном приеме среднетерапевтических доз фармакологических препаратов, что обуславливается не столько самим лекарственным средством, сколько особенностями иммунной системы больного и его конституционально-генетиче-

ской предрасположенностью [10, 11].

Наиболее частыми причинными факторами лекарственной болезни являются антибиотики (33%), сыворотки и вакцины (22,8%), транквилизаторы (13,6%), гормоны (10%), нестероидные противовоспалительные препараты (4,4%), спазмолитические (2,7%) и анестезирующие средства (2,2%) [8]. В последние годы участились сообщения о развитии аллергических реакций на антигистаминные и, особенно, на анестезирующие средства [5]. Если, начиная с 1948 г. и до настоящего времени «золотым стандартом» при местной анестезии в стоматологической практике считался лидокаин - лекарственное средство с сравнительно низким уровнем аллергичности и токсичности, то с 2000 г. за рубежом и в странах СНГ стали чаще использовать анестетик нового поколения - артифрин (Articaine). Между тем, из-за регистрации серьезных аллергических осложнений на артифрин [13], возникла необходимость изучить действие этого препарата на организм на клеточном уровне с привлечением, помимо традиционных тестов, других методов диагностики, в том числе биофизических. Преимущество последних от специфических иммунологических исследований состоит не только в относительной простоте регистрации данных, но и в объективности и скорости получения результатов. Так, известно применение для диагностики лекарственной болезни биофизических экспресс-тестов, основанных на оценке максимума интенсивности сверхслабого свечения сыворотки крови, что к биохимическим критериям, дает дополнительную информацию о возможных нарушениях физико-химических процессов в организме, в том числе об интенсификации окислительной модификации белков сыворотки крови и их конформационных изменениях.

Анализ проведенных к настоящему времени исследований показал, что не только лимфоциты, но и эритроциты являются информативными объектами развития сенсибилизации в организме [4, 12]. Эритроциты при этом претерпевают ряд морфофункцио-

нальных изменений с преобладанием макроформ в популяции периферической крови и с нарушением барьерных функций мембран эритроцитов. Кроме того, эритроциты теряют, присущие им в норме, физико-химические свойства, изменяется концентрационный градиент ионов калия и натрия между плазмой крови и цитоплазмой клетки, а, следовательно, нарушается ионотранспортная функция [4]. Эти клинические и экспериментальные данные послужили основой разработки биофизических тестов экспресс-диагностики лекарственной болезни, в том числе путем определения скорости наступления гемолиза эритроцитов, скорости оседания эритроцитов, а также путем анализа уровня поглощения ультразвука в эритроцитах, предварительно инкубированных с предполагаемым лекарственным аллергеном [1, 6, 7]. В связи с тем, что ни один из существующих методов не позволяет на 100% случаев выявлять лекарственный аллерген, виновный в развитии повышенной чувствительности организма, диагностику принято проводить с помощью нескольких методов. Поэтому на современной этапе по-прежнему остается актуальной проблема разработки новых методов диагностики лекарственной болезни, особенно автоматизированных экспресс-методов, одним из вариантов которых может стать метод КВЧ-диэлектрметрии. Предпосылкой для этого служат данные, согласно которым КВЧ-диэлектрметрия миллиметрового диапазона радиоволн позволяет достаточно информативно характеризовать водную компоненту макромолекулярных белковых комплексов внутри- и внеклеточной системы эритроцитов [2, 3]. Преимущества метода перед другими заключается в том, что с его помощью можно оценивать изменения сети водородных связей клеточной системы, поскольку регистрация этих изменений в присутствии реагентов различной физико-химической природы приходится на область дисперсии диэлектрической проницаемости свободной воды ($f = 10 \div 40$ ГГц).

Исходя из всего вышесказанного, целью настоящей работы стало изучение изменения

диэлектрической проницаемости эритроцитов в присутствии артифрина у больных с острыми проявлениями лекарственной болезни и с лекарственной болезнью в анамнезе *in vitro*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Под наблюдением находилось 45 больных лекарственной болезнью в возрасте от 35 до 50 лет (20 – с острыми ее проявлениями и 25 больных с лекарственной болезнью в анамнезе) и 13 практически здоровых доноров. В качестве объекта исследования использовали эритроциты венозной крови больных и здоровых доноров, предварительно центрифугированные в присутствии 3,8% раствора цитрата натрия (гематокрит 95%), а в качестве лекарственного аллергена - артифрин.

Анализ измерений действительной части комплексной диэлектрической проницаемости (ϵ') проводили с помощью аппаратурно-регистрирующего комплекса, включающего миллиметровую часть (КВЧ-диэлектрометр), волновое звено которой состояло из набора волноводных элементов и измерительной кюветы ($V_{\text{кюветы}} = 9$ мкл). Регистрационную часть комплекса представляли персональный компьютер (ПК) и программное обеспечение (ПО). Точность относительных измерений по ϵ' составила $\Delta = \pm 1$ %; абсолютных - $\pm 3,5$ %.

Параллельно с измерением диэлектрической проницаемости эритроцитов определяли сенсibilизацию к артифрину путем оценки скорости оседания эритроцитов. Для этого использовали венозную кровь, смешанную с 3,8% раствором цитрата натрия, которую набирали в капилляр Панченкова до метки «40» и переносили в преципитационную (или вассермановскую) силиконированную пробирку. К цитратной крови в соотношении 1:1 добавляли физиологический раствор, при этом ингредиенты тщательно перемешивали. Затем смесь крови и физиологического раствора набирали в тот же силиконированный капилляр Панченкова до

метки «0» и укрепляли его в аппарате Панченкова (контрольный образец). Во второй силиконированный капилляр Панченкова до метки «40» набирали раствор артифрина в концентрации 500 мкг/мл и переносили в пробирку с кровью, тщательно перемешивая ингредиенты. Затем смесь крови и лекарственного аллергена набирали до метки «0» силиконированного капилляра Панченкова и укрепляли его в аппарате Панченкова (опытный образец). Реакцию оценивали при комнатной температуре через 3 часа. Поскольку с уменьшением количества эритроцитов отмечается ускорение скорости оседания эритроцитов, то при оценке реакции делали перерасчет на индивидуальный коэффициент, который вычисляли путем деления концентрации эритроцитов исследуемого больного на концентрацию эритроцитов практически здорового человека. Результаты считали положительными в случае уменьшения или ускорения скорости оседания эритроцитов в опыте по сравнению с контролем не менее чем на 20% [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Диэлектрическая проницаемость отвечает за уровень взаимодействия исследуемого объекта с электромагнитным полем в определенной области частот, включающей область дисперсии исследуемого биологического объекта, а также, в частности, достаточно легко представляемый параметр как поляризуемость биомакромолекул в исследуемой суспензии. На основании результатов проведенных исследований было установлено, что изменение диэлектрической проницаемости эритроцитов и скорости оседания эритроцитов в присутствии артифрина было достаточно коррелированным. На рисунке 1 представлены результаты синхронных измерений реальной части комплексной диэлектрической проницаемости эритроцитов (ϵ') и скорости оседания эритроцитов в присутствии артифрина по отношению к контролю (в качестве контроля использовалась суспензия эритроцитов без лекарственного аллергена).

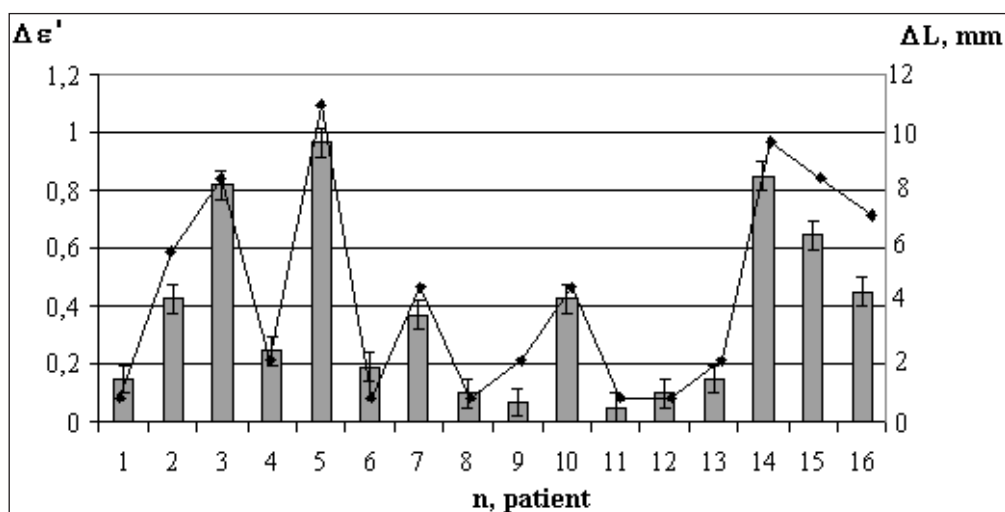


Рис. 1 Изменение реальной части комплексной диэлектрической проницаемости эритроцитов ($\Delta \epsilon'$) и скорости оседания эритроцитов (ΔL) в присутствии артемизина в группе исследуемых больных ($\Delta \epsilon'$ - столбцы гистограммы, $\Delta \epsilon' = \epsilon'_{\text{контроль}} - \epsilon'_{\text{исслед. образец}}$, ΔL - сплошная линия, $\Delta L = L_{10} - L_{\text{ex}}$)

Не исключено, что изменение параметров диэлектрической проницаемости связаны не только с образованием специфических комплексов антиген-антитело в случае развития сенсибилизации к артефрину, но и с действием артефрина на липидный бислой биологической мембраны [15]. В качестве доказательства высказанного предположения известны данные о том, что молекулы артефрина локализуются в области полярных «голов» бимолекулярного липидного слоя, преимущественно парал-

лельно бислойной поверхности, увеличивая электростатический потенциал внутри его, хотя нейтральные формы артефрина могут проникать через фосфолипидный бислой в цитоплазму клетки. Эти данные базируются на основании результатов исследований зарубежных авторов [16], свидетельствующих, что артефрин обладает липофильностью и способствует формированию не только внешних, но и внутримолекулярных водородных связей в биологических мембранах (рис.2).

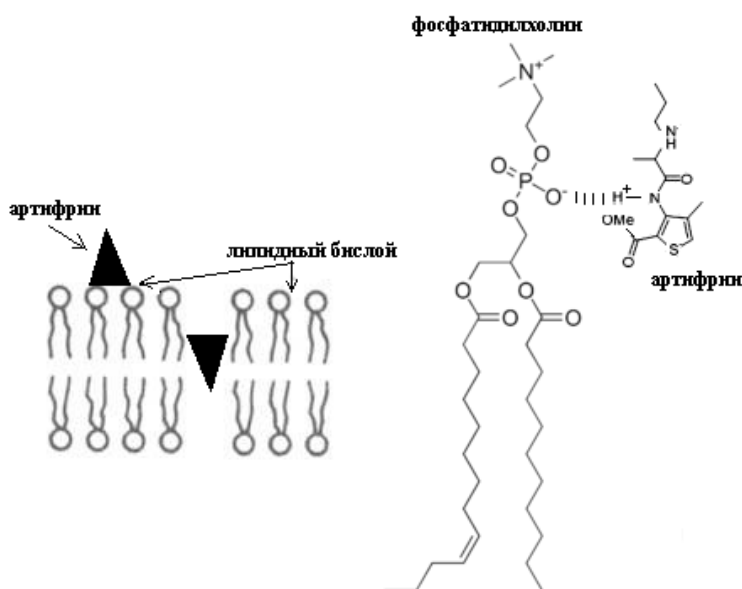


Рис. 2 Модель молекулярного механизма действия артефрина на биомолекулы мембраны

Уменьшение действительной части комплексной диэлектрической проницаемости в присутствии артрифина по отношению к контролю в проведенных измерениях указывает на уменьшение дипольного момента образовавшегося макромолекулярного комплекса и соответственно, если использовать термины макромолекулярного взаимодействия, на уменьшение коэффициента вязкости с закономерным увеличением скорости оседания эритроцитов.

Таким образом, на основании анализа полученных результатов параллельных исследований по двум методикам, при которых изучали диэлектрическую проницаемость эритроцитов и скорость оседания эритроцитов в присутствии лекарственного аллергена,

предполагаемого в качестве виновника развития аллергического состояния, был выявлен высокий коэффициент корреляции ($r = 0,917$) полученных данных, свидетельствующих об информативности КВЧ-диэлектрметрии для оценки сенсibilизации к артрифрину.

ВЫВОДЫ

Измерение диэлектрической проницаемости эритроцитов в диапазоне дисперсии свободной воды ($f = 10 \div 40$ ГГц) может быть рекомендовано в качестве дополнительного экспресс-метода оценки сенсibilизации к лекарственным средствам, позволяющим выявлять лекарственный аллерген в течение нескольких минут.

ЛИТЕРАТУРА

1. А.с. 1120967, МКИ А 61 В 10/00. Способ диагностики лекарственной аллергии / Солошенко Э.Н., Мавров И.И., Медведев В.М., Северин Н.Ф., Журавлев А.И., Кутасевич Я.Ф. – №3784776/28-13; заявл. 22.06.82; опубл.30.10.84, Бюл.№40.
2. Древаль Н. В. Применение миллиметровых и субмиллиметровых радиоволн и их комбинации в исследовании биологических объектов // Дис...канд. биолог. наук: 03.00.02 / Наталия Владимировна Древаль.– Симферополь, 2009.– 163 с.
3. Комбинированное влияние терагерцового и миллиметрового излучений на антиоксидантный статус и осмотический гемолиз эритроцитов *in vitro* / А. К. Кондакова, Г.А. Семко, Н.В. Древаль и [др.] // Дерматология и венерология.– 2010.– №4 (50).– С. 33-37.
4. Морфометрические показатели эритроцитов и функциональное состояние их мембран у больных лекарственной болезнью / Э.Н. Солошенко, А.Е. Дунаева, Е.М. Мамотюк и [др.] // Экспериментальна клінічна медицина.– 2001.– №3.– С. 67 – 72.
5. Мурзин А.В. Лекарственная аллергия / А.В. Мурзин, М.А. Голубев, А.Д. Кручинин // Южно-Российский медицинский журнал.– 1999.– №2-3.– С.10 – 17.
6. Пат. 28518 А, А 61 В 10/00. Спосіб визначення алергену у хворих лікарською хворобою / Е.М. Солошенко, І.І. Мавров, Т.П. Ярмач, З.М. Шевченко, О.О. Мещеряков, А.Е. Дунаева.– № 97032634; заявл. 05.06.1997; опубл. 16.10.2000, Бюл. №5-11.
7. Пат. 34280 А, G 01N 33/68, А61 В 10/00. Спосіб виявлення специфічного алергену / Солошенко Е.М., Маров І.І., Остроухов В.Д., Данник Ю.Г., Ярмач Т.П., Шевченко З.М.– № 99063479; заявл. 22.08.1999; опубл. 15.02.2001, Бюл. № 1.
8. Пухлик Б.М. Аллергические перекрестки / Б.М. Пухлик // Новости медицины и фармации.– 2010.– № 21(349).– С.10 – 11.
9. Солошенко Э.Н. Экспресс-диагностика лекарственных дерматозов / Э.Н. Солошенко // Инф.письмо.– К., 1983.– 2 с.
10. Солошенко Э.Н. Лекарственная болезнь как актуальная социальная и клиническая проблема / Э.Н. Солошенко // Доктор.– 2005.– №1(27).– С. 36 – 39.
11. Солошенко Э.Н. Побочное действие лекарственных средств. Дифференциальная диагностика аллергических, токсико-аллергических и псевдоаллергических реакций / Э.Н. Солошенко // Клиническая иммунология. Аллергология. Инфектология.– №1(6).– 2007.– С. 8 – 14.

12. Солошенко Э. Н. Лекарственная болезнь в проблеме побочного действия лекарственных средств: современное состояние. Вопросы диагностики и лечения / Э. Н. Солошенко // Международный медицинский журнал.– 2012.– Т. 18, №3(71).– С. 80 – 88.

13. El-Qutob D. Allergic reaction caused by articaine / D. El-Qutob, C. Morales, A. Peláez // Allergologia et Immunopathologia.– 2005.– Vol. 33.– N 2.– P. 115-116.

14. Mojumdar E.H. Molecular dynamics simulations of local anesthetic articaine in a lipid bilayer / E.H. Mojumdar, A.P. Lyubartsev // Biophysical Chemistry.– 2010.– Vol. 153.– N 1.– P. 27-35.

15. Skjjevik A. A. Intramolecular hydrogen bonding in articaine can be related to superior bone tissue penetration: A molecular dynamics study / A. A. Skjjevik, B. E. Haug, H. Lygre, K. Teigen // Biophysical Chemistry.– 2011.– Vol. 154.– N 1.- P. 18 – 25.

**ОЦІНКА ДІЕЛЕКТРИЧНОЇ
ПРОНИКНОСТІ
ЕРИТРОЦИТІВ
ПРИ ВИЯВЛЕННІ
СЕНСИБІЛІЗАЦІЇ ДО
АНЕСТЕТИКУ АРТИФРИНУ
ЗА ДОПОМОГОЮ МЕТОДУ
НВЧ-ДІЕЛЕКТРОМЕТРІЇ**

**Солошенко Е.М.¹,
Кондакова Г.К.¹,
Колесніков В.Г.²,
Хміль Н.В.²,
Шевченко З.М.¹,
Ярмак Т.П.¹**

*ДУ «Інститут дерматології
та венерології НАМН України»¹*

*Інститут радіофізики та електроніки
ім. О. Я. Усикова НАН України²*

Резюме. Проведені заміри діелектричної проникності еритроцитів паралельно з заміром швидкості осідання еритроцитів в присутності анестетику нового покоління артифрину. Високий коефіцієнт кореляції ($r = 0,917$) результатів за двома методами свідчили про інформативність застосування НВЧ-діелектрометрії для оцінки сенсibiliзації до артифрину та про можливість її використання в якості експрес-методу для діагностики лікарської хвороби.

Ключові слова: лікарська алергія, еритроцити, НВЧ-діелектрометрія.

**PERMITTIVITY
ERYTHROCYTE
EVALUATION IN
ANESTHETIC OF
ARTIPHINE
SENSITIZATION
DETECTION BY EHF-
DIELECTROMETRY
METHOD**

**Soloshenko E.N.¹,
Kondakova A.K.¹,
Kolesnikov V.G.²,
Khmel N.V.²,
Shevchenko Z. M.¹,
Yarmak T.P.¹**

*SE "Institute of Dermatology and
Venerology of National Academy of
Medical Sciences of Ukraine"¹*

*The Usikov Institute of Radiophysics and
Electronics of NAS of Ukraine²*

Abstract. Permittivity erythrocyte measurements are completed parallel to erythrocyte sedimentation velocity measurement in the presence of new generation anesthetic such as artiphine. High correlation coefficient ($r = 0,917$) of the data obtained by two methods testifies to EHF-dielectrometry informativity for artiphine sensitization evaluation as well as to possibility of its application for drug disease express diagnostics method.

Key words: drug disease, erythrocyte, EHF-dielectrometry.